

平成24年2月

# 小林北斗 学位論文審査要旨

主 査	渡 辺 高 志
副主査	難 波 栄 二
同	兼 子 幸 一

## 主論文

Valproic acid improves the tolerance for the stress in learned helplessness rats

(学習性無力ラットのストレス耐性に対するバルプロ酸の改善効果)

(著者：小林北斗、岩田正明、三谷秀明、山田武史、中込和幸、兼子幸一)

平成24年 Neuroscience Research 掲載予定

# 学 位 論 文 要 旨

## Valproic acid improves the tolerance for the stress in learned helplessness rats (学習性無カラットのストレス耐性に対するバルプロ酸の改善効果)

薬物療法を施行しても、うつ病の再発率は高く、再発予防の生物学的研究が必要である。動物実験では、うつ病モデルである学習性無力(Learned helplessness、LH)パラダイムを用いた研究があるが、これらの研究から抗うつ薬がLH動物のうつ病様行動を改善するだけでなく、同時に神経化学的变化を引き起こすことが知られている。バルプロ酸(Valproic acid、VPA)は、双極性障害の躁・うつ両状態の再発予防作用をもつが、単極性うつ病で、うつ状態での再発を予防しうるかどうかは明らかでない。

本研究では、LH動物を用いてVPAの再発予防効果を検討した。まず、LH動物を作成後、4週の回復期間をおき、うつ病様行動の改善を確認した。次に、4週の回復期をおいたLH動物に対して21日間のVPA投与を行った後、うつ病様行動の評価法である強制水泳法(Forced swimming test、FST)を用いてストレス脆弱性を評価した。脳由来神経栄養因子(BDNF)や前シナプスのマーカーであるシナプシンIと後シナプスのマーカーであるMAP-2の海馬での発現量の変化も併せて検討した。

### 方 法

SD雄性ラット(250–300g、N=172)を用いて実験を行った。本研究は、鳥取大学動物実験規則に従い、鳥取大学動物実験委員会の承認を得ている。

LHラット作成後、4週の回復期間後に、回避試験とFSTにより、うつ病様行動を検討した。

次に、4週の回復期後のLH動物に対してVPA(200 mg/kg、i.p)を21日間投与し、行動学的・神経化学的变化を調べた。この際、対照群を設け、4群(LH+VPA、LH+Saline、Control+VPA、Control+Saline)を比較した。

行動学的変化は、FSTで評価した。また、3群(VPA 50、100、200 mg/kg)でVPAの用量依存性を調べた。神経化学的变化として、海馬におけるBDNF、シナプシンI、MAP-2を調べた。BDNFはELISAにより、シナプシンI、MAP-2は免疫組織化学染色法を行い評価した。

統計解析は、2群間の比較では、Studentの  $t$  検定を行い、3群以上の群間比較では、1要因あるいは2要因の分散分析を行った後、Tukeyの多重比較を行った。  $p < 0.05$  を統計的有意とした。

## 結 果

- ① 4週間の回復期後、LH動物は回避試験とFSTの2試験でうつ病様行動の改善を示した。
- ② 4週間の回復期をおいたLH動物に対してVPAを投与した結果、FSTでの無動時間が著明に減少し、かつこの傾向はLH動物でより顕著であった。神経化学的には、海馬の歯状回、アンモン角CA3、CA1領域において、VPAを投与されたLH動物群のみでシナプシンIの有意な増加が認められた。BDNF、MAP-2には、有意な変化を認めなかった。

## 考 察

LH動物に4週間の回復期をおくと、うつ病様行動はコントロールレベルまで改善していた。このことから、LHパラダイムで生じたうつ病様行動は、4週間後には自然軽快し、この状態はヒトにおけるうつ病の寛解状態に相等すると考えられた。

うつ病様行動に対するVPAの予防効果を検討するため、LH動物作成後、回復期をおき、その後21日間のVPA投与を行った。VPA投与後のFSTでは、VPAを投与したLH群でのみ、ストレス耐性を有意に高める効果が認められ、シナプシンIの発現も他群に比べて有意に高かった。シナプシンIやその他のシナプス小胞結合蛋白は、シナプス伝達やシナプス再構築において重要な役割を果たすこと、ストレス負荷直後のLH動物では、これらのタンパク量が減少することが先行研究で報告されている。したがってVPAの反復投与が海馬におけるシナプシンIの発現を高め、シナプス可塑性を高めたり、シナプス再構築を惹起した可能性が示唆される。またこれらの変化が、本研究においてVPAを投与したLH動物で行動変化が認められたことと関連している可能性が考えられる。リン酸化シナプシンIにはグルタミン酸の放出を増強する機能があるが、本研究で用いた抗シナプシンI抗体はリン酸化の有無を認識しない。したがって、本研究の結果がリン酸化シナプシンIを反映しているかは不明であり、今後、抗リン酸化シナプシンI抗体を用いてVPA投与の効果を検討する必要がある。

## 結 論

VPAは抗うつ効果だけでなく、ストレスでもたらされるうつ状態の再発予防効果も有することが示唆された。また、VPAによって生じるシナプシンIの発現増加がストレス耐性の増加と関連する可能性が示唆された。